



TITLE:

Regeneration of elastic fibers by three-dimensional culture on a collagen scaffold and the addition of latent TGF- β binding protein 4 to improve elastic matrix deposition(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

Aya, Rino

CITATION:

Aya, Rino. Regeneration of elastic fibers by three-dimensional culture on a collagen scaffold and the addition of latent TGF- β binding protein 4 to improve elastic matrix deposition. 京都大学, 2016, 博士(医学)

ISSUE DATE:

2016-03-23

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k19570>

RIGHT:

| | | | |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|-------|
| 京都大学 | 博士（ 医 学 ） | 氏 名 | 綾 梨 乃 |
| 論文題目 | Regeneration of elastic fibers by three-dimensional culture on a collagen scaffold and the addition of latent TGF-β binding protein 4 to improve elastic matrix deposition （コラーゲン基材を用いた 3 次元培養系において、latent TGF-β binding protein 4 は弾性線維再生を促進する） | | |
| <p>（論文内容の要旨）</p> <p>【背景】</p> <p>弾性線維は細胞外基質の主要成分であり、皮膚や血管、肺などの弾性を担う。老化や瘢痕形成により一旦障害されると十分な再構築は不可能であり、皮膚のたるみや肺気腫、動脈硬化の原因となる。弾性線維再生の従来 of 報告は 2 次元培養によるものが多く、3 次元培養は散見されるのみで、十分な厚みを持つ基質の再生が得られているとは言い難い。</p> <p>Latent TGF-β binding protein 4（以下 LTBP-4）は弾性線維構成成分のひとつで、弾性線維形成に必須の分子である。細胞から分泌されたトロポエラスチンをミクロフィブリル上に沈着させる作用が報告されている。また、2 次元培養において LTBP-4 は容量依存的に弾性線維形成を促進することが知られている。</p> <p>本研究では、臨床使用されている人工真皮（ペルナック®）の、コラーゲンスポンジ孔径と架橋条件を弾性線維再生に有利となるよう調整し、同スポンジを用いた 3 次元培養系で LTBP-4 の弾性線維形成促進作用の検討を行った。</p> <p>【方法】</p> <p>ヒト皮膚より線維芽細胞を採取し、孔径と架橋条件の異なるコラーゲンスポンジで培養を行った。弾性線維成分に対する免疫組織学的検査を実施し、染色面積を定量して、弾性線維形成に有利なスポンジの条件を決定した。このスポンジを用いた培養系で LTBP-4 の作用を検討した。さらに、①スポンジのみ、②線維芽細胞を播種したスポンジ、③LTBP-4 を添加したスポンジ、④線維芽細胞の播種および LTBP-4 を添加したスポンジ、の 4 群に分け、これらを免疫不全マウスに移植し、3 週間後にサンプリングした。免疫組織化学的検討を行い、in vivo において LTBP-4 が弾性線維再生を促進するかを検討した。</p> <p>【結果・考察】</p> <p>ヒト線維芽細胞の 3 次元培養による弾性線維の形成は、平均孔径 25 μ m、120℃熱架橋のコラーゲンスポンジにおいて最も良好であった。同スポンジを用いたヒト線維芽細胞 3 次元培養系の培地に、LTBP-4 を添加した群では、非添加群と比較して有意に弾性線維形成が良好であった。</p> <p>LTBP-4 とエラスチンの沈着状況を免疫組織学的に検討した結果、LTBP-4 添加群の方が非添加群と比較し、3 週間の培養期間中 LTBP-4、エラスチン両分子とも沈着量が有意に多かった。次に、LTBP-4 を培養開始時に 1 回のみ添加した群と、開始時および 7 日毎に添加した群で比較した。両群とも、LTBP-4 非添加群より有意に弾性線維沈着量が多かったが、LTBP-4 の添加回数による沈着量の差はなかった。以上より、培養開始時にのみ LTBP-4 を添加すれば、弾性線維形成促進効果が得られることが示唆された。</p> <p>In vivo における検討では、①スポンジのみの群では弾性線維形成を認めず、②、③、④群で弾性線維の形成を認めた。これら 3 群のうち、有意差をもって④スポンジ</p> | | | |

| | | | |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--|--|--|
| <p>に線維芽細胞を播種かつ LTBP-4 添加した群で、最も厚い弾性線維含有組織が形成された。以上より、LTBP-4 は in vivo でも弾性線維再生促進作用を有することが示唆された。</p> <p>【結語】</p> <p>人工真皮（ペルナック®）の製造法を改変し、平均孔径 25 μ m、120℃熱架橋によりコラーゲンスポンジを作成した。このスポンジを用いた線維芽細胞の三次元培養系において、弾性線維の再生を実現した。さらに LTBP-4 を添加すると、in vitro、in vivo において、弾性線維を含有した厚みのある基質の沈着を認めた。</p> <p>この方法は、弾性線維が 3 次的に構築されるメカニズムの解明に役立つとともに、弾性線維を含有する生体組織の再生や新たな人工材料の開発につながる可能性がある。</p> <p>(論文審査の結果の要旨)</p> <p>弾性線維は皮膚や血管、肺などの弾性を担う。一旦障害されると十分な再構築は不可能であり、皮膚のたるみや肺気腫、動脈硬化の原因となるが、これまで弾性線維を含む十分な厚みを持つ基質の再生は実現されていない。</p> <p>Latent TGF-β binding protein 4 (以下 LTBP-4) は弾性線維形成に必須の分子であり、2 次元培養において容量依存的に弾性線維形成を促進することが知られている。本研究では人工真皮（ペルナック®）のコラーゲンスポンジを、弾性線維再生に有利となるよう改変し、同スポンジを用いた 3 次元培養系で LTBP-4 の弾性線維形成促進作用の検討を行った。</p> <p>孔径と架橋条件の異なるコラーゲンスポンジでヒト線維芽細胞の培養を行い、免疫組織学的検査を実施し、染色面積を定量した。その結果、平均孔径 25 μ m、120℃熱架橋のコラーゲンスポンジにおいて弾性線維の形成が最も良好であった。このスポンジを用いて LTBP-4 の作用を検討した。その結果、LTBP-4 は in vitro、in vivo の両方で弾性線維再生促進作用を有し、厚みのある弾性線維含有組織が再生された。</p> <p>この方法は、皮膚等、弾性線維を含有する組織の人工材料として応用が期待できると同時に、弾性線維が 3 次的に構築されるメカニズムの解明に役立つ可能性がある。</p> <p>以上の研究は弾性線維を含有する生体組織の再生や新たな人工材料の開発に寄与するところが多い。</p> <p>したがって、本論文は博士（ 医学 ）の学位論文として価値あるものと認める。</p> <p>なお、本学位授与申請者は、平成 2 8 年 1 月 1 5 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。</p> | | | |
| 要旨公開可能日： 年 月 日 以降 | | | |